

Triazinski herbicidi u okolišu

Tišljar, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:482968>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



TRIAZINSKI HERBICIDI U OKOLIŠU

ZAVRŠNI RAD

Petra Tišljar

Zagreb, rujan, 2023.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Preddiplomski studij:

Fitomedicina

TRIAZINSKI HERBICIDI U OKOLIŠU

ZAVRŠNI RAD

Petra Tišljar

Mentor: izv. prof. dr. sc. Luna Maslov Bandić

Zagreb, rujan, 2023.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, Petra Tišljar, JMBAG 0178118043, rođena 19.04.1999. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila završni rad pod naslovom:

Triazinski herbicidi u okolišu

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga završnog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj završni rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga završnog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI ZAVRŠNOG RADA

Završni rad studentice Petre Tišljar, JMBAG 0178118043, naslova

Triazinski herbicidi u okolišu

mentor je ocijenio ocjenom _____.

Završni rad obranjen je dana _____ pred povjerenstvom koje je prezentaciju ocijenilo ocjenom _____, te je studentica postigla ukupnu ocjenu

_____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|---------------------------------------|--------|-------|
| 1. | izv. prof. dr. sc. Luna Maslov Bandić | mentor | _____ |
| 2. | izv. prof. dr. sc. Maja Šćepanović | član | _____ |
| 3. | dr. sc. Valentina Šoštarčić | član | _____ |

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Cilj rada.....	1
2. Triazinski herbicidi	2
2.1. Atrazin	3
3. Sudbina atrazina u okolišu	7
4. Utjecaj atrazina na životinje i ljude	10
5. Načini razgradnje atrazina	13
5.1. Metaboliti razgradnje	13
5.2. Biološke metode razgradnje	14
5.2.1. Mikrobna razgradnja	15
5.2.2. Fitorazgradnja	16
5.2.3. Bioorganska gnojiva	16
5.3. Fizikalno-kemijske metode razgradnje	17
5.3.1. Fotoliza	17
5.3.2. Fentonov proces.....	17
5.3.3. Fotokataliza.....	18
5.3.4. Oksidacija plazme.....	18
5.3.5. Aktivni ugljen	19
5.3.6. Biougljen	19
5.4. Razgradnja u ljudi.....	19
6. Analiza triazinskih herbicida u okolišu	20
6.1. Metode pripreme uzoraka	20
6.1.1. Ekstrakcija tekuće-tekuće	20
6.1.2. Ekstrakcija čvrsto-tekuće	20

6.1.3.	Ekstrakcija na čvrstoj fazi.....	21
6.1.4.	Superkritična ekstrakcija (SFE).....	21
6.1.5.	Mikrovalna ekstrakcija.....	21
6.1.6.	Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (SPME)	22
6.2.	Metode analize uzoraka.....	22
7.	Zaključak	23
	Popis literature.....	25

Sažetak

Završnog rada studentice Petre Tišljar, naslova

Triazinski herbicidi u okolišu

Atrazin je herbicid iz skupine koja inhibira proces fotosinteze te ometa i ostale fiziološke procese u biljci. Triazini su desetljećima bili najkorištenija skupina herbicida širom svijeta koja se koristila u poljoprivredne svrhe, ali i pri suzbijanju korova na željeznicama i urbanim područjima. Zbog takve dugotrajne, česte i raznolike upotrebe pojavila se rezistentnost korova te ogromno zagađenje okoliša, pogotovo podzemnih i površinskih voda. Također, dovela se u pitanje sigurnost živih organizama koji žive u zagađenim medijima kao i sigurnost ljudi. Iz navedenih razloga je u većini država EU zabranjena njihova primjena 2003. godine, a toj odluci su prethodila mnoga istraživanja samih herbicida te skupine kao i istraživanja njihovih metabolita. Cilj ovoga rada je prikazati medije u kojima se pronalaze rezidue atrazina, negativne utjecaje herbicida i rezidua na okoliš te organizme, utvrditi metabolite razgradnje herbicida kao i metode kojima se iste mogu dokazati.

Ključne riječi: atrazin, perzistentnost, toksičnost, razgradnja, dokazivanje metabolita

Summary

Of the final work - student Petra Tišljar, entitled

The triazine herbicides in the environment

Atrazine is a herbicide from the group that inhibits the process of photosynthesis and interferes with other physiological processes in the plant. For decades, triazines were the most widely used group of herbicides worldwide, used for agricultural purposes, but also for controlling weeds on railways and urban areas. Due to such long-term, frequent and varied use, weed resistance and enormous pollution of the environment, especially underground and surface water, appeared. Also, the safety of living organisms living in polluted media, as well as the safety of people, was called into question. For the above reasons, their use is prohibited in most EU countries in 2003 and this decision was preceded by many researches on the herbicides of this group as well as researchers on their metabolites. The aim of this paper is to show the media in which atrazine residues are found, the negative effects of herbicides and residues on the environment and organisms, to determine the metabolites of herbicide decomposition, as well as the methods by which they can be proven.

Keywords: atrazine, persistence, toxicity, degradation, metabolite detection

1. Uvod

Korovi uzrokuju značajne ekonomske štete na brojnim usjevima u svijetu te čine velike štete u urbanim područjima u vidu uništenja prometnica i građevnih objekata. Kao osnovna mjera suzbijanja koriste se sredstva za zaštitu bilja, točnije herbicidi, jer su jednostavni i učinkoviti za primjenu. Herbicidi su uz jednostavnost i učinkovitost relativno jeftini te lako nabavljivi te su zato prva obrana protiv korova. Sve se više sredstava za zaštitu bilja povlači s tržišta pa tako i herbicidi. Najveći razlog povlačenja sredstava za zaštitu bilja sa tržišta su ekotoksikološki razlozi. Herbicidi uzrokuju onečišćenje okoliša i ugrožavaju zdravlje ljudi. Također, javlja se sve veći problem rezistentnosti na veliki broj herbicida, a pogotovo na triazine. Triazini su prva skupina herbicida u kojoj se dokazala rezistentnost korova. Sve navedeno je potaknulo znanstvenike da detaljnije istraže triazinsku skupinu. Prvenstveno su se provodila istraživanja kojima su se dokazali svi mediji koji sadrže rezidue herbicida. Kada su došli do zaključka da skoro pa nema medija u kojem nisu nađene rezidue, krenulo se sa istraživanjima u smjeru razgradnje herbicida i dokazivanja sekundarnih metabolita koji nastaju. Kada su metaboliti dokazani, ispostavilo se da su neki od njih jednako toksični kao i sam atrazin. Tada su znanstvenici krenuli proučavati koja metoda će prije razgraditi atrazin na sigurnije metabolite u što kraćem vremenu kako bi toksičnost na organizme bila što manja. Tako su se pronašli načini kako poboljšati, tj. ubrzati stare metode razgradnje, ali su se pojavile i neke nove metode. U međuvremenu se pojavila sumnja u točnost dotadašnjih istraživanja u vidu utjecaja na organizme, uključujući ljude. Starija istraživanja su isključivala kancerogenost triazina, a radovi u kojim se i sumnjalo na kancerogenost, nisu imali dosta dokaza da bi se isto moglo službeno potvrditi. Kancerogenost se prvo dokazivala istraživanjima na štakorima, a danas se kancerogenost istražuje i kod ljudi. Saznalo se također na koje sve načine atrazin, kao i ostali triazini, djeluju na organizam te koje sve defekte i bolesti uzrokuju. Zbog svih navedenih razloga, mnoge države su već zabranile, a mnoge će tek zabraniti uporabu atrazina.

1.1. Cilj rada

Cilj ovoga rada je prikazati medije u kojima se pronalaze rezidue atrazina, negativne utjecaje herbicida i rezidua na okoliš te organizme, utvrditi metabolite razgradnje herbicida kao i metode kojima se isti mogu dokazati.

2. Triazinski herbicidi

Triazinski herbicidi su herbicidi koji svojim mehanizmom djelovanja pripadaju u inhibitore fotosinteze u fotosustavu II ili u grupu C prema HRAC (Herbicide Resistance Action Committee). Mendaš (2011.) navodi da triazinski herbicidi sprečavaju tok elektrona s fotosustava II na fotosustav I u kloroplastima. Intenzivno su se počeli koristiti prije više od 50 godina i jedni su od najstarijih herbicida (Fishel, 2018.). Korišteni su za uništavanje korova u različitim usjevima kao i za kontrolu rasta korova na nepoljoprivrednim zemljištima poput autocesta i željezničkih pruga. Upotreba je moguća u sljedećim kulturama: kukuruзу, sirku, šećernoj trsci, pamuku, voćnjacima makadamije, ananasu, šparogama i nekim drugim kulturama (Peighambarzadeh i sur., 2011.). Pripadaju selektivnim herbicidima što znači da u isto vrijeme i na istom mjestu na korove djeluju herbicidno dok su prema kulturama selektivni i ne čine štetu ukoliko se primjenjuju pravilno (Klementova i Kelternova, 2015.). Kako su se kroz dugo razdoblje često koristili, kao rezultat toga je ostala široka distribucija te značajno nakupljanje triazinskih herbicida, točnije njihovih ostataka, u vodi i tlu. Zbog spomenute distribucije i nakupljanja ostataka, prepoznati su kao jedni od kritičnih zagađivala okoliša (Peng i sur., 2021.). Prema građi, tj. kemijskoj strukturi, dijele se na: simetrične (1,3,5-triazini ili s-triazini) i nesimetrične (triazinoni i triazidinoni). Simetrični triazini mogu se podijeliti u tri skupine:

a) klortriazini

1. atrazin
2. simazin

b) metoksitriazini

1. atraton
2. prometon

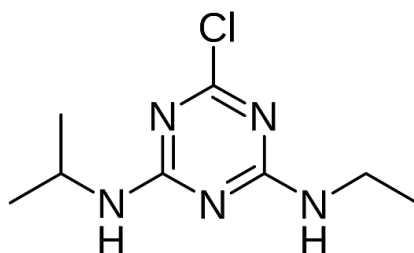
c) metiltiotriazini

1. ametrin
2. prometrin

U triazinone pripada metribuzin, a u triazidinone heksazinon (Mendaš, 2011.). Tema ovog rada je simetrični triazin atrazin iz grupe klortriazini.

2.1. Atrazin

Kemijski naziv atrazina je 6-kloro-N-etil-N-izopropil-1,3,5-triazin-2,4-diamin. Struktura navedene aktivne tvari je prikazana na Slici 1.



Slika 1. Struktura atrazina (Izvor: Hong i sur., 2022.)

Atrazin nije moguće pronaći u prirodi jer nije prirodnog podrijetla (ATSDR, 2003.). Sintetiziran je 1958. godine i nastao je iz cijanurklorida, koji se uzastopno tretira s etilaminom i izopropilaminom. Prema agregatnom stanju je čvrsta tvar, točnije bijeli kristalni spoj bez mirisa (Klementova i Kelternova, 2015.). Tablica 1. sadrži podatke o fizičko-kemijskim svojstvima atrazina kao i razgradnim produktima atrazina, tj. deetilatrizina, deizopropilatrizina, didealkilirani atrazin i hidroksiatrazina (Mendaš, 2011.).

Tablica 1. Fizičko-kemijska svojstva atrazina i produkata

SPOJ	S(H ₂ O) ^a / mg L ⁻¹	p ^b /Pa	t.t. ^c /°C	t _{1/2} ^d /d	logK _{ow} ^e	pK _a ^f
Atrazin	33	---	---	26	0,18	1,5
Deetilatrizin	---	---	---	17	1,13	1,3
Deizopropilatrizin	3200	---	---	---	1,52	1,3
Didealkilirani atrazin	670	---	---	---	1,03	5,2
Hidroksitrazin	5,9	3,9 10 ⁻⁵	176	60-100	2,48	1,7

^a topljivost u vodi pri 20°C do 25°C

^b tlak para pri 20°C do 25°C

^c temperatura taljenja

^d vrijeme poluraspada u tlu

^e koeficijent razdjeljenja u sustavu n-oktanol/voda

^f konstanta ionizacije konjugirane kiseline triazina

--- podatak nije pronađen

Atrazin nije vrlo hlapljiv, reaktivan ili zapaljiv, no lako se otapa u vodi što je najveći problem (Peighambarzadeh i sur., 2011.). Dean i sur. (1996.) navode da je topljivost atrazina u vodi u

rasponu od 5 do 750 ppm (Dean i sur, 1996.). Degradacija u tlu se odvija u aerobnim uvjetima te mjerena u danima iznosi 20 dana za DT₅₀ (laboratorij na 20 °C), a DT₅₀ (polje) iznosi 29 dana. Vodena fotoliza DT₅₀, mjereno u danima pri pH 7, iznosi 2.6 te je umjereno brza. Vodena hidroliza DT₅₀ mjerena u danima na 20 °C i pri pH 7 iznosi 86 i umjereno je postojana. Brzo hidrolizira u jakim kiselinama i alkalnim tekućinama te na povišenim temperaturama (Lewis i sur. 2016.). Atrazin je pokazao da je stabilan u acetonu barem 16 mjeseci na 25°C (Dean i sur., 1996.). Atrazin se obično primjenjuje pomiješan s vodom u određenoj koncentraciji te se primjenjuje folijarno ili direktno na tlo s kojeg se onda ispire u površinske i podzemne vode zbog čega se mogu pronaći u pitkoj vodi, kišnici i sedimentima (Mendaš, 2011.). Koristi se kao pre-emergence ili pre-em herbicid, tj. prije nego je korov niknuo, ili kao post-emergence ili post-em herbicid, tj. nakon što je korov niknuo (Dean i sur, 1996.). Tijekom godina je bio najkorišteniji herbicid u EU, a tako i u ostalim dijelovima svijeta. U SAD-u se koristio najviše te je upotreba konstantno bila u porastu od 1960-ih. Na kraju je količina potrošenog atrazina u SAD-u iznosila do 8000 tona svake godine. Atrazin se također intenzivno koristio u Iranu u kukuruzu i šećernoj trsci te su količine potrošenog pesticida od 2003. do 2006. godine iznosile 224, 409, 221 i 240 tona (Peighambarzadeh i sur., 2011.). Triazinski herbicidi su prva skupina u kojoj je po prvi puta zabilježena otpornost, tj. rezistentnost. Primjeri zabilježene rezistentosti triazinskih herbicida, a tako i atrazina su:

- *Alopecurus myosuroides* - mišji repak
- *Amaranthus retroflexus* - oštrolakavi šćir
- *Conyza canadensis* - kanadska hudoljetnica
- *Abutilon theophrasti* - teofrastov mračnjak (Lewis i sur., 2016.).

Proizvođači i dobavljači atrazina koji to rade i sada ili su radili do zabrane u pojedinim državama: Syngenta, Bayer CropScience, Monsanto i Scotts, a neki od proizvoda koji su bazirani na aktivnoj tvari atrazinu su: Gesaprim, Fenamin, Atrazinaks, Weedex, Primaze, Atratol, Radazin i Aatrex. Proizvodi su dostupni u nekoliko formulacija poput tekućina, granula koje se mogu raspršiti u vodi i vlažnih praškova (Lewis i sur., 2016.). EPA (Environmental Protection Agency) je prvo bila ograničavala kako se atrazin može koristiti i primjenjivati. Prskati su ga smjele samo pravilno obučene osobe za tretiranje istim, a sada je većinom zabranjen (ATSDR, 2003.). Primjena atrazina je u mnogim zemljama već u potpunosti zabranjena, a postupno se ukida i u ostalim zemljama. Broj zemalja koje su već zabranile ili će to učiniti u svijetu iznosi 44. U EU su zabranjeni svi triazini od 2003. godine (Hong i sur. 2022.).

Jedini triazin koji nije zabranjen je tert-butilazin, a takva je situacija i u Hrvatskoj (Donley 2022.). Kako bi se odredila opasnost i rizik nekog herbicida potrebno je procijeniti postojanost, bioakumulaciju i toksičnost istog. Iako su sva tri faktora bitna, neki navode da je sama postojanost dovoljan faktor za odluku o opasnosti i riziku. Postojanost je opasna jer što je herbicid postojaniji, to su štete na okoliš veće i dugotrajnije jer se duže u istom nalazi. Atrazin prema dosadašnjim podacima ima poluživot od nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci ovisno o okolišnim uvjetima, no ipak se i nakon zabrane atrazina u EU mogu pronaći niske koncentracije atrazina u vodenim medijima i tlu (Schäffer i sur, 2022.). Toksikološka zabrinutost atrazina prema Cramerovoj podjeli je visoka, tj. pripada klasi III. LD₅₀ (engl. lethal dose, LD) je smrtonosna doza, tj. količina materijala, dana odjednom, koja uzrokuje smrt 50% skupine pokusnih životinja. LD₅₀ je jedan od načina za mjerenje potencijala kratkotrajnog trovanja, točnije akutne toksičnosti. LC (engl. lethal concentration, LC) je smrtonosna koncentracija, tj. vrijednost koja se odnosi na koncentraciju kemikalije u zraku, a u studijama o okolišu mogu značiti i koncentraciju kemikalije u vodi, kojoj su tretirane životinje izložene tijekom određenog vremenskog razdoblja. To vremensko razdoblje je najčešće 14 dana, no može biti i manje i više. Koncentracija kemikalije u zraku koja ubije 50% pokusnih životinja tijekom razdoblja promatranja je vrijednost LC₅₀. EC (engl. effective concentration, EC) je efektivna koncentracija, tj. koncentracija tvari u okolišnom mediju za koju se očekuje da će proizvesti određeni učinak u 50% testnih organizama u određenoj populaciji pod definiranim skupom uvjeta. U sisavaca LD₅₀ oralno iznosi 1869 mg/kg, a LD₅₀ dermalno iznosi 3100 mg/kg. U ptica LD₅₀ iznosi 4237 mg/kg, a LC₅₀ kod glista kroz period od 14 dana iznosi 79 mg/kg. LD₅₀ kontaktno i oralno kod pčela iznose >100 µg/pčeli. Vodeni organizmi su u lošijoj situaciji naspram kopnenih organizama. Tako LC₅₀ u riba kroz period od 96 sati iznosi 4.5 mg/L, u vodenih beskralježnjaka EC₅₀ u periodu od 48 sati iznosi 85mg/L, LC₅₀ kroz period od 96 sati za rakove iznosi 1,0mg/L. U vodama se javila toksičnost i u biljnih organizama pa je tako izražena EC₅₀ za vodene biljke i alge. EC₅₀ za biljke kroz 7 dana iznosi 0,019mg/L, a ista kroz period od 72 sata za alge iznosi 0.056 mg/L (Lewis i sur., 2016.). ADI (engl. Acceptable Daily Intake, ADI) je prihvatljivi dnevni unos, tj. procjena količine tvari u hrani ili vodi koja se može konzumirati tijekom života bez predstavljanja značajnijeg rizika za zdravlje, a isti za atrazin iznosi 0,02mg/kg. ARfD (engl. Acute Reference Dose, ARfD) je akutna referentna doza, tj. procjena količine tvari u hrani ili vodi koja se može unijeti u kratkom vremenskom razdoblju, obično tijekom jednog obroka ili jednog dana, bez značajnog zdravstvenog rizika za potrošača. Ista za

atrazin iznosi 0,1mg/kg. Svjetska zdravstvena organizacija, WHO (engl. World Health Organisation, WHO) je postavio smjernicu za pitku vodu pri čemu u njoj ne smije biti više od 0,002mg/l atrazina. Atrazin se smatra potencijalno kancerogenom tvari. Dokazana je genotoksičnost za gene A3, B0, C0, D0 i E3. Genotoksičnost je svojstvo kemijskih tvari koje oštećuju genetičke informacije unutar ćelija čime se uzrokuju mutacije zbog kojih dolazi do određenih poremećaja, bolesti pa čak i karcinoma. Atrazin je također dokazan kao endokrini disruptor. Iritira oči, probavni trakt te kožu. Nije dokazano utječe li na probleme s reprodukcijom i razvojem te je li neurotoksičan, no postoje indikacije da je (Lewis i sur. 2016.).

3. Sudbina atrazina u okolišu

Ostatke pesticida i produkata njihove razgradnje moguće je pronaći u svim dijelovima okoliša zbog njihove sporije razgradnje. Triazinski herbicidi su navedeni u mnogim direktivama na „crnim listama“ jer su pronađeni skoro svugdje i to u velikim koncentracijama (Evgenidou i Fytianos, 2002.). Atrazin mora doći u okoliš, a kada tamo i bude prisutan, potrebno je vidjeti gdje se točno nalazi i u kojoj koncentraciji te odrediti u kojim uvjetima su najviše koncentracije istog. Atrazin u okoliš ulazi prvenstveno prskanjem poljoprivrednih usjeva i nepoljoprivrednih površina. Atrazin potom u tlo preuzimaju biljke koje su tretirane. Također, može se isprati iz tla u potoke ili podzemne vode gdje se potom lako širi na šire prostore. Atrazin također može biti u zraku gdje se veže za čestice u zraku, poput prašine (ATSDR, 2003). Herbicidi općenito, kao i atrazin, predstavljaju jedan od najvećih ekoloških problema. Zbog njih je onečišćeno tlo, podzemne vode kao i površinske vode (Solomon i sur., 2013.). Kako bi se procijenila sudbina pesticida dospjelih u okolišu, potrebno je u obzir uzeti utjecaje abiotskih i biotičkih čimbenika (Evgenidou i Fytianos, 2002.). Upravo zato su razlozi zašto je atrazin brzo prešao iz vodećeg herbicida u opasno zagađivalo brojni. Atrazin ima velik potencijal apsorpcije i kretanja u organskim materijalima. Također, atrazin ima veliku postojanost u okolišu što je ustvari najveći problem (Rostami i sur., 2021.).

Doyle (2007.) navodi da atrazin ostaje u površinskim i podzemnim vodama s poluživotom duljim od 6 mjeseci te s određenom tendencijom vezanja za sedimente. Atrazin također ima tendenciju bioakumulacije u određene vodene organizme. Koncentracije atrazina u vodi trenutno prelaze dopuštene granice onečišćenja koje su propisane. Stoga se može reći da je atrazin najveći onečišćivač upravo u vodama, podzemnim kao i površinskim (Hong i sur., 2022.). Jedna studija iz 2014. godine je pratila kontaminaciju podzemnih voda u zapadnoj Njemačkoj i pronašli su atrazin u podzemnim vodama čak i nakon 20 godina od njegove zabrane, tj. posljednjeg korištenja (Rostami i sur., 2021.). Triazinski herbicidi su iznimno topljivi u vodi i zato mogu dospjeti u podzemne vode ili se ispiru u površinske vode i upravo zato su jedni od najčešće i najlakše pronađenih herbicida u vodama. Uz to, njihovi produkti razgradnje su jako postojani pa su zato i koncentracije istih jako velike i godinama nakon zadnjeg korištenja samog herbicida. Pokazalo se da se atrazin javlja s najvećom učestalošću, koja iznosi čak 82,1%. To je zato što se atrazin i njegovi produkti razgradnje lako mobiliziraju s oborinama u potoke i rijeke s daljnjim otjecanjima (Klementova i Kelternova, 2015.). Atrazin je također u

velikim koncentracijama otkriven u estuarijima, a to je jako zabrinjavajuća činjenica jer se od tuda lako može proširiti u veće vodene površine (Yang i sur., 2019.). Većina mobilizacije atrazina u iz tla u vodu se odvija tijekom prvih oborina nakon primjene herbicida, a naknadno otjecanje ima tendenciju stvaranja samo manjih koncentracija u vodama. Zbog toga je otkrivanje herbicida u većim potocima na srednjem zapadu obično sezonsko. Postoji pronalaska i koncentracija su veći u proljeće i rano ljeto, a manji u jesen i zimi. U većini slučajeva, godišnji gubitak herbicida u potoke je predstavljao oko 5% primijenjenog iznosa (Klementova i Kelternova, 2015.).

Doyle (2007.) je procijenio da se postojanost atrazina u tlu općenito kreće od 14 do 109 dana, iako u nekim tlima može trajati i više od 4 godine. Atrazin se može pronaći u česticama i parnim fazama zraka nakon primjene i može se prenijeti do 286 kilometara od mjesta primjene te tamo ući u tlo, a potencijalno i u vode. Nakon primjene herbicida u tlo, samo će dio biti dostupan za preuzimanje korijenom biljke. To je zbog nastalih gubitaka u gornjim dijelovima tla, tj. u prvih nekoliko centimetara tla. Ti procesi uključuju: isparavanje, apsorpciju tla s visokim sadržajem organskih tvari, ispiranje obilnom ili dugotrajnom kišom, fotokemijsku razgradnju sunčevom svjetlošću, mikrobiološku razgradnju u tlu, kemijsku razgradnju u tlu i toplinsku degradaciju (Dean i sur., 1996.). Razlog zašto je atrazin i nakon toliko godina bio prisutan je kontinuirano otpuštanja istog u velikim količinama u kombinaciji s niskom razgradnjom atrazina. U jednom istraživanju ostaci atrazina su pronađeni u dubokim slojevima tla, čak i na dubini od 3 m (Rostami i sur., 2021.). Atrazinu u dubljim slojevima treba duže da se razgradi, a s obzirom da tako duboko dolazi ponajviše u površine gdje je dugo navedeni herbicid korišten, može se zaključiti da su tamo najveće štete po okoliš, što zbog teške razgradnje, a što zbog količina atrazina koji je u tim slojevima. Atrazin se očito može prenositi kroz tlo, a to omogućuju dva različita procesa. Prvi proces je transport kroz strukturu tla, a drugi proces je kretanje kroz velike pore u tlu. Transport kroz strukturu tla je spor proces, dok je kretanje kroz velike pore puno brže (Klementova i Kelternova, 2015.). Učinkovitost triazina pri primjeni na tlo ovisi o nekoliko varijabli koje uključuju: strukturu tla, sadržaj organske tvari, sadržaj vlage i raspodjelu veličine čestica. Dalje, način na koji se herbicid nanosi na tlo može utjecati na njegovu učinkovitost. Prašci i praškaste formulacije su manje postojane od primjene granula (Dean i sur., 1996.). U istraživanju su procijenili mobilnost atrazina kroz nekoliko tipova tla. U crvenom glinastom tlu, koje je predstavljalo umjereno vlažna i tropska područja, atrazin se teže apsorbirao jer glina ima nizak kapacitet apsorpcije, a zbog toga dolazi

do većeg ispiranja. Ako je u tlu puno organske tvari, apsorpcija se povećava, što znači da je atrazin skloniji takvim tipovima tla. Dalje su se provodila istraživanja zašto je atrazin skloniji organskim tvarima te se saznalo za nekoliko interakcija atrazina s humusnom organskom tvari. Klementova i Kelternova (2015.) navode da su prisutni sljedeći mehanizmi: prijenos protona, prijenos elektrona te hidrofobne interakcije između humusnog materijala i atrazina. Za sličan herbicidni učinak u pjeskovitom i organskom tlu je obično potrebno puno manje sredstva u pjeskovitom tipu tla, nego u organskim tlima ukoliko ima oborina tijekom prvih nekoliko tjedana nakon primjene. To je zbog već spomenute povezanosti apsorpcije s organskom tvari. U pjeskovitom tipu tla je niska adsorpcijska mogućnost pa je brže ispiranje za razliku od organskih tla gdje je obrnuto (Dean i sur., 1996.).

4. Utjecaj atrazina na životinje i ljude

Atrazin se može apsorbirati kroz kožu, a posebno kroz posjekotine i ogrebotine te zato izravne kontakte treba izbjegavati. Također se apsorbira vrlo lagano i kroz pluća disanjem (NJDEP, 2013.). Doyle (2007.) navodi da se klorirani metaboliti atrazina, poput dietilatrazina (DEA), diizopropil-atrazina (DIA) i diaminoklorotriazina (DACT), stvaraju u životinjskim tkivima, tlu i vodi i smatraju se jednako toksični kao atrazin. Atrazin negativne učinke ima na sve organizme, samo što su promjene slabije u nekih, a jače u drugih organizama. Tako su do sada dokazane promjene kod kopnenih organizama poput ptica, stoke, gujavica, glodavaca pa čak i ljudi. Također, zabilježene su promjene i u vodenim organizama poput algi, fitoplanktona te riba. Biljke također reagiraju negativnim promjenama u određenim situacijama.

Goveda, kao i ostala stoka, dolaze u kontakt s atrazinom i njegovim metabolitima putem hrane. Isti se akumuliraju u njima na sljedeći način, govedo proguta biljku, tj. hranu, koja sadrži atrazin. Atrazin ima izraženije toksične učinke na preživače, nego na glodavce. U jednoj studiji dvije doze atrazina od 250 mg/kg uzrokovale su uginuće i ovaca i goveda (Peighambarzadeh, 2011.). Kod glisti je atrazin uzrokovao oksidacijski stres, oštećenje DNA i abnormalnu gensku ekspresiju. S obzirom da su gliste usko povezane s održivošću poljoprivrednih tla, javlja se veliki problem same mikrobiote tla (Rostami i sur., 2021.). Djelovanje mnogih toksičnih spojeva, pa tako i atrazina, se najčešće istražuje na štakorima, a prema tim rezultatima istraživanja se razrađuju modeli njegova ponašanja i raspodjele u organizmu sisavaca. U tom su se istraživanju štakori tretirali atrazinom putem hrane u količini od 12 mg na 100 g tjelesne težine kroz period od 7 dana. Atrazin su nakon 7 dana pronašli u svim analiziranim organima, točnije jetri, bubrezima te mozgu. Dokazan je deetilatrazin u bubrezima i mozgu, a deizopropilatrazin u bubrezima. Rezultati provedenih istraživanja pokazuju da atrazin u sisavaca djeluje kao inhibitor u određenim reakcijama koje ovise o hormonima. Provedena su istraživanja u *in vivo* i *in vitro* uvjetima te je dokazano da dodatak atrazina uzrokuje smanjenje aktivnosti 5 α -reduktaze. To je enzim odgovoran za metabolizam testosterona. U štakora su također primijetili ranije nastajanje te veću učestalost različitih vrsta tumora. Kod ženki štakora se također inhibiralo izlučivanje prolaktina tijekom laktacije. Pri masenom udjelu od 12,5 mg/kg tjelesne težine i 25 mg/kg tjelesne težine inhibirano otpuštanje prolaktina bilo je samo kod nekih ženki, dok je pri 50 mg/kg tjelesne težine atrazina inhibirano otpuštanje prolaktina kod svih ženki u istraživanju (Mendaš, 2011.). I *in vivo* i *in vitro* podaci sugeriraju da atrazin ometa

ovarijski ciklus na način da može inducirati tumore dojke kod štakora. No, s obzirom da je reproduktivni ciklus štakora drugačiji od ljudskog, mehanizam nastanka tumora u štakora nije relevantan za ljude (Klementova i Kelternova, 2015.). S obzirom da se za atrazin danas poznaju maksimalne granice koje navodno ne bi trebale činiti štetu organizmima, provodila su se istraživanja koja su promatrala tu maksimalnu količinu atrazina na organizme te utjecaji koji su se dogodili. Tako je istraživana je klastogeni potencijal klortriazinskih herbicida, a tako i atrazina, na stanicama jajnika hrčka. Stanice su bile izlagane maksimalno dopuštenoj količini koja je tada iznosila 0,1 mg/L, ali su bile izlagane i najvišoj pronađenoj masenoj koncentraciji koja je iznosila 1,8 mg/L u pitkoj vodi. Dokazano je da je atrazin uzrokovao oštećenje kromosoma. Ovo je, kao i mnoga druga istraživanja, dokaz da rezultati dosadašnjih epidemioloških studija nisu dovoljni kako bi se utvrdilo utječe li izloženost triazinskim herbicidima na razvoj bilo koje vrste raka kod ljudi (Mendaš, 2011.). Učinci koji su primijećeni kod odraslih jedinki, i kod ljudi i kod životinjskih vrsta, uključuju skraćeni spolni ciklus, oslabljeno lučenje leutenizirajućeg hormona, smanjenje razine hormona hipofize, histopatologiju jajnika, tj. promjene u tkivu jajnika, te povećane serumske lipide i jetrene enzime u jetri kao i histopatologiju jetre. Također postoje i negativni učinci na središnji živčani sustav, imunološki sustav kao i na kardiovaskularni sustav. Postoje sumnje da je izloženost atrazinu povezana s nekim vrstama ne-Hodgkinovog limfoma kod odraslih (Doyle, 2007.). Izloženost žena atrazinu rezultira povećanim rizikom od prijevremenog porođaja, intrauterinog zastoja u rastu i smanjenom porođajnom težinom. Implikacije mogućih endokrinih poremećaja u djece povezane su s učincima atrazina tijekom trudnoće i tijekom spolnog razvoja, iako je dostupno malo studija. Istraživanja na životinjama su dokazala da izloženost djece atrazinu dovodi do kašnjenja ili promjena čak i u pubertetskom razvoju. Djeca su atrazinu izložena kroz nekoliko medija, ali u različitim potencijalima izloženosti. Tako je izloženost visoka u podzemnim i površinskim vodama, ali i u vodi za piće. Izloženost je srednja pri konzumaciji hrane, točnije žitarica i životinja koje se hrane istima. Mala je mogućnost izloženosti putem tla, sedimenata, zraka na otvorenom te zrakom u zatvorenim prostorima. Nedavna istraživanja izloženosti žaba atrazinu sugeriraju da atrazin može utjecati na spolni razvoj, iako je EPA izložila podatke koji su trenutno nedostatni za donošenje ikakvih zaključaka, stoga implikacije tih podataka na zdravlje djece ostaju nejasne (Doyle, 2007.). Klementova i Kelternova (2015.) navode da su hormonski aktivni ksenobiotici, uključujući atrazin, identificirani su kao endokrino ometajuće kemikalije, a izloženost kralježnjaka ovim spojevima

može izazvati kratkoročne i dugoročne štetne učinke uključujući funkcionalne promjene koje pridonose smanjenoj reprodukciji. U muških jedinki je dokazano da atrazin uzrokuje probleme s plodnošću, tj. smanjen je broj spermija ili su isti usporeni (Donley, 2022.).

Yang i suradnici (2019.) navode da su prethodni testovi akutne toksičnosti dokazali da visoke doze atrazina i njegovih derivata, poput DEA i DIA, predstavljaju izravnu toksičnost za razne akvatične organizme kao što su fitoplanktoni i mikroorganizmi. U fitoplanktona i algi koje su bile izložene atrazinu je dokazano da je inhibiran fotosustav. Tako je rast fitoplanktona i algi usporen, a modificirani su i enzimatski procesi. Isti utjecaj se događa i kod viših biljaka. Kod vodozemaca je još zabilježena i jaka mutagenost, genotoksičnost, ali i nepravilna dioba stanica te endokrini poremećaji. Jedna od studija pokazala je da izloženost vodozemaca određenim razinama atrazina izaziva seksualne promjene (Rostami i sur., 2021.). Ribe se zbog akumuliranja zagađivala, u ovom slučaju herbicida, mogu koristiti kao biološki indikator. Ona herbicid akumulira u kontaktu sa zagađenom vodom i sedimentima ili gutanjem zagađene hrane. Ovo je korisno, jer se do sad većinom pažnju posvećivalo otkrivanju triazina u žitaricama, povrću i uzrocima okoliša. Otkrivanjem triazina pomoću riba bi se došlo do novih saznanja o atrazinima (Peng i sur., 2021.). Dokazano je u nekoliko vrsta ribi da je atrazin inhibitor enzima povezanog s metabolizmom jetre i da izaziva genotoksična oštećenja. Kod šarana je potvrđeno da atrazin izaziva apoptozu neutrofila i histološko oštećenje jetre te testisa (Rostami i sur., 2021.). Učinci atrazina istraživani su i na lososima. Dokazali su brzo akumuliranje atrazina u žuči, utjecaj na sintezu steroida u testisima te inhibiciju endokrinih funkcija kod mužjaka. To je upućivalo na značajan utjecaj atrazina na endokrini sustav lososa (Mendaš, 2011.).

Povećane koncentracije, kao i akumulacija atrazina u tlu, mogu uzrokovati široku toksičnost u biljkama. Pri koncentracijama većim od 2 mg/kg primijećeni su toksični odgovori biljaka poput smanjene biomase i kloroza (Rostami i sur., 2021.).

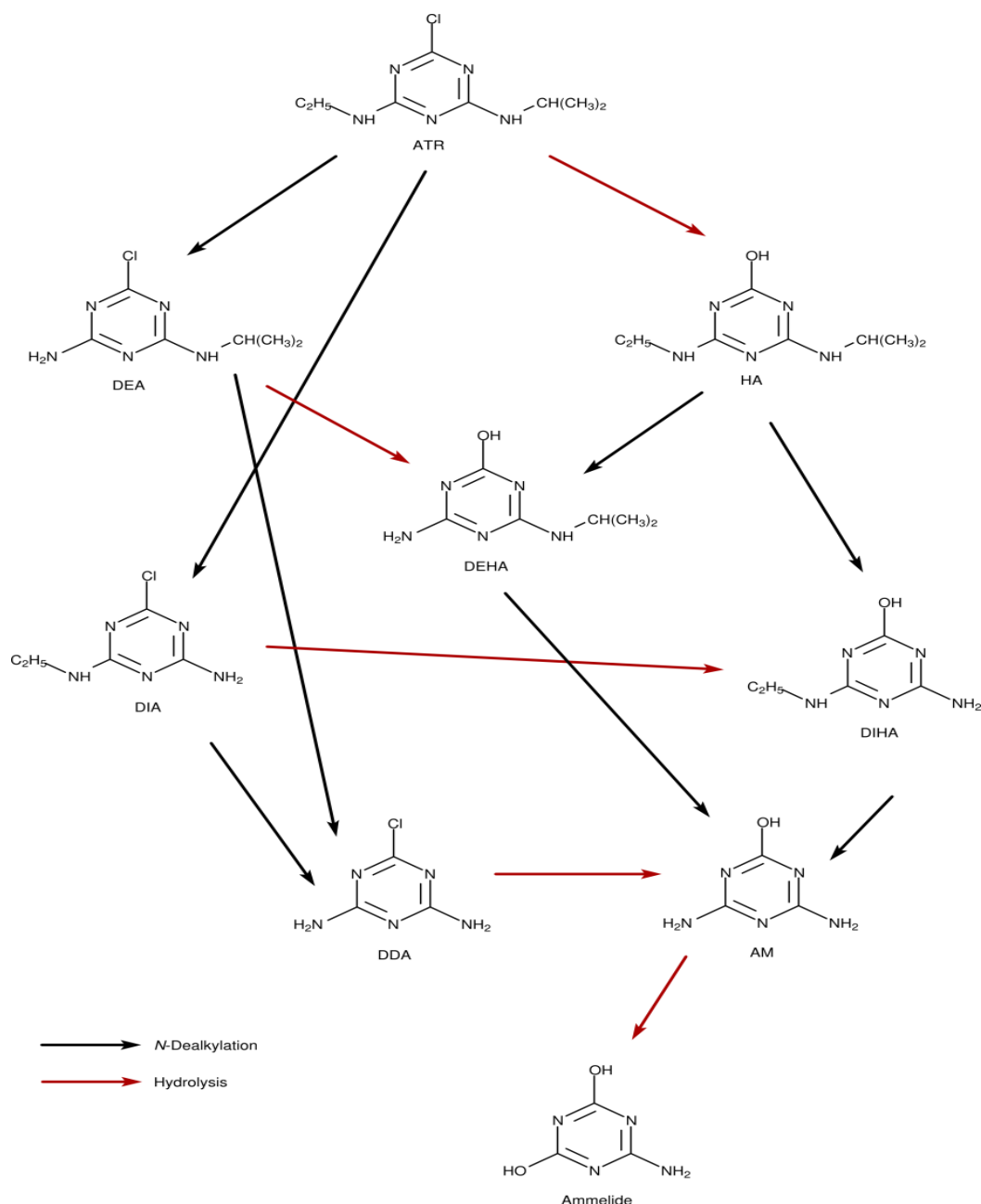
5. Načini razgradnje atrazina

5.1. Metaboliti razgradnje

Metaboliti atrazina, kao produkti razgradnje atrazina, mogu se ispirati s površine tla te prodiru u podloge i smatraju se značajnom opasnošću za podzemne vode. Kada se herbicid otpusti u okoliš, može se razgraditi kroz biotičke ili abiotičke procese. Produkti razgradnje obično su manje toksični za žive organizme od matičnog spoja, međutim, u nekim slučajevima te tvari mogu biti štetnije od primarnog zagađivala i predstavljaju veći rizik za okoliš jer duže ostaju u istom. U Europi su usvojene smjernice za prikupljanje informacija o svim metabolitima, reakcijama i produktima razgradnje. Putevi razgradnje atrazina još nisu dobro poznati (Rostami i sur., 2021.). Na slici 2. je prikazana razgradnja atrazina N-dealkilacijom i hidrolizom. Put N-dealkilacije je označen crnom strelicom, dok je put hidrolize označen crvenom strelicom. Produkti razgradnje atrazina su na slici prikazani strukturno te označeni skraćenicama. Skraćenice stoje za sljedeće spojeve:

- DEA – desetil atrazin
- HA – hidroksiatrazin
- DEHA – deetilhidroksiatrazin
- DIA – deizopropil atrazin
- DIHA – deizopropil hidroksiatrazin
- DDA – didealkil atrazine
- AM – amelin

Osim ovih metabolita postoje još i neki drugi (Klementova i Kelternova, 2015.).



Slika 2. Strukturni prikaz metabolita nastalih N-dealkilacijom i hidrolizom (Klementova i Kelternova, 2015.).

Zbog toksičnosti atrazina i njegovih metabolita, široke uporaba kao i relativno visoke stabilnosti u vodi i tlu te mogućnosti toksičnosti za biljke i ljude, od presudne je važnosti odrediti sigurne i učinkovite metode za uklanjanje ovog onečišćivača iz okoliša. Postoji nekoliko novih pristupa za uklanjanje atrazina iz okoliša (Rostami i sur., 2021.). Postoje biološke te fizikalno-kemijske metode razgradnje navedenih metabolita.

5.2. Biološke metode razgradnje

Biorazgradnja se odnosi na djelomičnu i/ili potpunu transformaciju ili detoksikaciju kontaminanata od strane mikroba, biljaka ili enzima. Ona ima prednosti pred fizičkim i

kemijske metodama u smislu niskih troškova i prihvatljivosti za okoliš (Hong i sur., 2022.). Biološke metode uključuju mikrobnu razgradnju, fitorazgradnju, SMFC te bioorganska gnojiva.

5.2.1. Mikrobna razgradnja

Mikrobna razgradnja (Microbial remediation) uključuje sposobnost mikroorganizama za uklanjanje zagađivala s kontaminiranih mjesta. Razlog tome je sposobnost autohtonih mikroorganizama, koji su već prisutni u zagađenom okolišu, da transformiraju zagađivala u bezopasne proizvode putem reakcija koje se odvijaju tijekom njihovih metaboličkih procesa (Hong i sur., 2022.). Ona ima mnoge prednosti, a to su: mogućnost primjene na širokoj razini, relativno jednostavan postupak, niske cijene i odsutnost sekundarne kontaminacije. Istovremeno, ima i puno čimbenika koji ograničavaju učinkovitost mikroorganizama. Ti čimbenici su: temperatura, salinitet, pH, sadržaj hranjivih tvari. Problem s mikroorganizmima je da se lako dreniraju u vodi čime se njihova učinkovitost znatno smanjuje. Određene gljive i bakterije razgrađuju molekulu atrazina alkilacijom i kloriranjem reakcije. Mikroorganizmi mogu razgraditi atrazin u konačni oblik kao cijanurinska kiselina i CO₂. Atrazin može razgraditi *Arthrobacter* sp. (Wang i Xie, 2012), *Chelatobacter heintzii* (Rousseaux et al., 2001), *Rhodococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Streptomyces* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Clavibacter michiganense* (Popov i sur., 2005.), *Enterobacter cloacae* (Shapir i sur., 2006.), *Bacillus megaterium*, *Alcaligenes faecalis*, *Klebsiella ornithinolytica* i *Agrobacterium tumefaciens* (Solomon i sur., 2013.). Specifični bakterijskih sojevi očito mogu brzo razgraditi atrazin uz visoku učinkovitost. Jedna od opcija je i metoda kapsuliranja tih bakterijskih sojeva u biorazgradive materijale (Rostami i sur., 2021.). Danas su razvijene već gotove samoimobilizirane biosmjese (SIB) koje imaju svojstva bioapsorpcije i biorazgradnje te zato mogu brže uklanjati atrazin (Hong i sur., 2022.).

Organska zagađivala mogu razgraditi mikroorganizmi u prirodi, no često se zbog nedostatka odgovarajućeg receptora elektrona ograničava disanje mikroorganizama. Taj problem se može riješiti korištenjem električno vodljivog materijala koji je sličan elektrodama koje se koriste u metodi mikrobne elektroremedijacije stanica. Uklanjanjem ograničenja u lancu prijenosa elektrona, poboljšano je stanično disanje mikroorganizama koji su do čak pet puta više razgrađivali atrazin nego kontrolna grupa (Rostami i sur., 2021.).

5.2.2. Fitorazgradnja

Do danas su mnogi istraživači koristili tehnologiju fitoremedijacije za rješavanje problema u okolišu koji je kontaminiran atrazinom. Fitoremedijacija je tehnologija koja koristi biljke za obradu organskih i anorganskih zagađivala iz okoline pri čemu biljka uklanja zagađivala iz okoliša kroz mehanizme koji uključuju razgradnju, unos, isparavanje, akumulaciju i poboljšanje aktivnosti rizosfere tla. Fitorazgradnja organskih spojeva se odvija unutar biljke ili oko biljaka u tlu (Hong i sur., 2022.). Prednosti ove metode su jednostavnost, niska cijena, odsutnost sekundarnog onečišćenja i ekološka kompatibilnost. Osim ovih prednosti, fitoremedijacija ima i pozitivan vizualni utjecaj na okoliš. Obično se koristi za uklanjanje atrazina iz okoliša tla te je pokazao visoku učinkovitost. *Lolium multiflorum* je selektiran kao biljka podobna za ovu metodu. To je biljka koja može rasti i klijati u tlu kontaminiranom atrazinom u koncentraciji od 1 mg/kg, tj. jako je otporna na atrazin. Ona može povećati kapacitet razgradnje atrazina za 20%. U drugoj studiji ispitali su fitoremedijacijski potencijal četiri biljke: *Lolium perenne*, *Festuca arundinacea*, *Hordeum vulgare* i *Zea mays*. Rezultati su pokazali da navedene biljke mogu akumulirati atrazin u svojim tkivima. Između testiranih biljaka, kukuruz je bio vrsta koja je imala najveću sposobnost akumulacije atrazina i akumulirao je više od 38,4% početne koncentracije atrazina (Rostami i sur., 2021.). Biljke koje se još mogu koristiti za razgradnju atrazina su: *Pennisetum clandestinum*, *Oryza sativa* te *Medicago sativa* (Hong i sur., 2022.).

5.2.3. Bioorganska gnojiva

Iako različite tehnike, poput biorazgradnje i fizičke adsorpcije, mogu ukloniti atrazin iz kontaminiranih tla na različitim razinama učinkovitosti, potrebno je pronaći učinkovitiji, troškovno i ekološki prihvatljiviji način razgradnje. Alternativni i iskoristivi materijal su bioorganska gnojiva ili BOF (engl. Bio-organic fertilizers, BOF). To je vrsta gnojiva gdje su kombinirani specifični mikroorganizmi i organske tvari, a uglavnom se sastoje od rafiniranih životinjskih i biljnih ostataka. Studije su pokazale da se uporabom bioloških gnojiva poboljšava kvaliteta tla, potiče se rast biljaka te se suzbijaju bolesti koje se prenose tлом. Proučavana je i razgradnja atrazina u tlima u kojima je dodan BOF i pokazano je smanjenje učinaka atrazina na rast soje što znači da su količine istog bile smanjene. Ovo gnojivo je pripremljeno korištenjem poljoprivrednog otpada i organskog goveđeg gnojiva (76,20%), biougljena (4,46%), te poli- γ -glutaminske kiseline (8,63%). Od bakterija, u gnojivo je dodan jedan od

sojeva bakterija koje razgrađuju atrazin i nalaze se u tlu. One pripadaju *Arthrobacter* sp., a u gnojivu su dodane u sljedećem broju $0,91 \times 10^8$ CFU/g. Učinkovitost razgradnje atrazina je bila 95,05% nakon deset dana, a početna koncentracija je bila 15,26 mg/kg (Rostami i sur., 2021.).

5.3. Fizikalno-kemijske metode razgradnje

5.3.1. Fotoliza

Fotoliza je metoda koja svjetlosnim zračenjem može razgraditi mnoge vrste herbicida i pesticida pa tako i atrazin. Postupno smanjenje atrazina je posljedica procesa fotolize koja može biti uzrokovana sunčevom svjetlošću i ultraljubičastim zrakama (UV) u tlu. To je izravnu fotokemijska razgradnja zračenjem kratke valne duljine od 254 nm (Klementova i Kelternova, 2015.). U prirodnim uvjetima, zbog slabog prodiranja UV zračenja u tlo, smanjenje koncentracije atrazina događa se sporo i samo u gornjim slojevima tla. Razni čimbenici kao što su pH, intenzitet zračenja, zrnatost tla te prisutnost organske tvari utječu na brzinu fotolize atrazina. U jednom istraživanju je dosegnuta konstantna stopa razgradnje od 0,08 do 0,17 dnevno na dubini od 0,5 mm od površine tla. Također, potvrđeno je da manja veličina čestica tla te prisutnost određenih organskih spojeva, kao što je huminska kiselina, povećavaju tu konstantnu stopu degradacije (Rostami i sur., 2021.). Potvrđeno je da je kloriranje glavni put razgradnje atrazina ovom metodom (Klementova i Kelternova, 2015.).

5.3.2. Fentonov proces

Jedna od najpoznatijih i najrazvijenijih AOP metoda (engl. Aspect-Oriented Programming, AOP) koja se koristi za tretiranje tla kontaminiranog herbicidima i pesticidima je Fentonov proces. Fentonove reakcije temelje se na oksidaciji iona željeza (Fe^{2+}) u sloju koji sadrži vodik, točnije H_2O_2 , i stvaranje hidroksilnog radikala. Hidroksilni radikali oksidiraju atrazin u manje opasne tvari. Razni oksidativni spojevi poput permanganata (MnO_4^-), persulfata ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) i ozona (O_3) se mogu koristiti u Fenton reakciji (Rostami i sur., 2021.). Na učinkovitost procesa tipa Fentonove reakcije utječe nekoliko parametara kao što su koncentracija H_2O_2 , pH i intenzitet UV zračenja. Glavna prednost Fentonovog procesa je njegova sposobnost korištenja sunčeve svjetlosti za fotokemijsku aktivaciju, čime se izbjegava visok trošak pri korištenju UV lampi (Klementova i Kelternova, 2015.).

5.3.3. Fotokataliza

Metoda fotokatalize je također često korištena metoda. U fotokatalitičkoj metodi nastaju jaki hidroksilni radikali, u prisutnosti katalizatora i pod UV ili vidljivom svjetlosti, a oni oksidiraju i razgrađuju zagađivalo. Proučavana je svjetlosna degradacija atrazina u prisutnosti prirodne gline i biljnog hormona indol-3-octene kiseline pod vidljivim svjetlom zračenja. Otkriveno je da dolazi do reakcije u hidratiziranim elektronima indol-3-octene kiseline kada ih ionizira svjetlo, ti elektroni potom reagiraju s protonima i otopljenim kisikom te stvaraju hidroksilne radikale koji potiču daljnju razgradnju atrazina. Glina produljuje životni vijek i učinkovitost hidratiziranih elektrona tako da stabilizira radikalne katione, elektrostatski upijajući negativne naboje u glini. Osim toga, glina povećava vjerojatnost aktivnih radikala sudarajući se s molekulama atrazina i stvarajući ograničeni prostor. Zbog visoke prisutnosti indol-3-octene kiseline i gline u okolišu, predviđa se da će ova reakcija igrati ključnu ulogu u razgradnji atrazina. U fotokatalitičkim procesima kao katalizatori se koriste oksidi raznih poluvodljivih metala kao što su TiO_2 , ZnO , CdS , GaP i WO_3 (Rostami i sur., 2021.). Poluvodljiva fotokataliza koristi čvrst katalitički sustav pri čemu se supstrat, koji se mora razgraditi, otapa ili raspršuje u otopini ili plinovitoj fazi oko katalizatora. Koraci u razgradnji su:

- a) Prijenos reaktanta tekuće ili plinovite faze na katalitičku površinu difuzijom
- b) Adsorpcija reaktanta na površinu katalizatora
- c) Reakcija adsorbiranih molekula
- d) Desorpcija produkta
- e) Uklanjanje produkata iz područja sučelja difuzijom (Klementova i Kelternova, 2015.).

5.3.4. Oksidacija plazme

Oksidacija plazme se pokazala kao izvrsna metoda za razgradnju atrazina, a k tome je inovativna i ekološki prihvatljiva. Niskotemperaturna plazma ili LTP (engl. Low-Temperature Plasma, LTP) je najčešće korištena u ovim metodama razgradnje. Atrazin se u istraživanju pokušavao razgraditi metodom dielektričnog briarijernog pražnjenja ili DBD (The Dielectric Barrier Discharge).. Učinkovitost razgradnje atrazina u tlu postignuta je u postocima 86,9% i 98,1% nakon 60 minuta tretmana plazmom, počevši od početnih koncentracija atrazina koje su iznosile 100mg/kg i 10 mg/kg. Rezultati istraživanja su također pokazali da relativna vlažnost, od 5% do 10%, poboljšava razgradnju atrazina. Mjerenjem je utvrđeno da je nakon 60 min došlo do 65,5% mineralizacije atrazina. Na učinkovitost DBD metode utječu mnogi

parametri, vrijeme tretmana, početna koncentracija onečišćivača, vlažnost tla, brzina protoka zraka, učestalost ispuštanja i energetska učinkovitost (Rostami i sur., 2021.).

5.3.5. Aktivni ugljen

Aktivni ugljen ima poroznu strukturu i veliku specifičnu površinu, a ta svojstva omogućuju učinkovitu apsorpciju raznih zagađivala. Aktivni ugljen, koji je dostupan u granulama, prahu i vlaknima, najčešći je adsorbent koji se koristi za razgradnju atrazina. Međutim, istraživanja su pokazala da aktivni ugljen u vlaknima upija sedam puta više atrazina od komercijalnog granuliranog aktivnog ugljena. Zbog izvanredne sposobnosti aktivnog ugljena u razgradnji organskih zagađivala, ovaj se adsorbent koristi u kombinaciji s drugim tehnologijama razgradnje atrazina (Rostami i sur., 2021.).

5.3.6. Biougljen

Biougljen se proizvodi tijekom procesa koji uključuje pirolizu i karbonizaciju biomase. On se koristi kao ekološki prihvatljiva i isplativa metoda za uklanjanje herbicida iz okoliša. Biougljen ima mnoge prednosti: nekoliko vrsta materijala iz kojih nastaje, niske cijene i relativno velike specifične površine. Istraživana je sposobnost komercijalnog aktivnog ugljena i biougljena iz gnoja da imobilizira atrazin i Pb u kontaminiranom tlu. Nakon pripreme biougljena iz gnoja, dobiveni biougljen je dodan atrazinu i Pb u tlu u masenom omjeru od 0, 2,5 i 5%. Koncentracija Pb i atrazina izmjerena je u tlu. Nakon 210 dana rezultati su pokazali da je bioraspoloživost atrazina smanjena od 66% do 81%. Općenito, rezultati ove studije pokazali su da biougljen iz stočnog otpada ima dobar potencijal u stabilizaciji i imobilizaciji organskih zagađivala i teških metala u kontaminiranim tlima (Rostami i sur., 2021.).

5.4. Razgradnja u ljudi

Razgradnja atrazina u ljudskom organizmu nije skroz razjašnjena, no pretpostavka je da su glavni putovi razgradnje atrazina u ljudskom organizmu *N*-dealkiliranje i biotransformacija putem glutaciona. Razgradni produkti atrazina se izlučuju urinom u periodu od 24 do 48 sati (Mendaš, 2011.).

6. Analiza triazinskih herbicida u okolišu

6.1. Metode pripreme uzoraka

Kvaliteta analitičkih podataka ovisi o metodi korištenoj pri pripremi uzoraka. Dean i sur (1996.) navode sljedeće metode ekstrakcije: ekstrakcija tekuće-tekuće i ekstrakcija čvrsto-tekuće. Modernizirane verzije istih su: Ekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. solid-phase extraction, SPE), superrkritična ekstrakcija (engl. supercritical fluid extraction, SFE), mikrovalna ekstrakcija te mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. solid-phase microextraction, SPME).

6.1.1. Ekstrakcija tekuće-tekuće

Ekstrakcija tekuće-tekuće je metoda za odvajanje spojeva, na temelju njihove relativne topljivosti u dvije različite tekućine koje se ne miješaju, obično vodi i organskom otapalu. Voda je polarna, a organsko otapalo je nepolaro. Ova vrsta ekstrakcija je metoda za ekstrakciju triazina iz vodenih uzoraka okoliša. U slučaju triazina, ova metoda se provodi na sljedeći način: uzorku, koji nije veći od 1 L, podesi se pH na 7 te pomiješa s organskim otapalom kao što je metilen klorid. Taj uzorak je zatim izoliran, osušen i koncentriran do volumena od 5 mL tijekom izmjene otapala metil tert-butil eterom. Za uzorke većih količina, koji iznose do 120 L, koristi se Gouldenov ekstraktor velikog uzorka (Dean i sur., 1996.).

6.1.2. Ekstrakcija čvrsto-tekuće

Ekstrakcija čvrsto-tekuće je metoda odvajanja krute otopljene tvari iz smjese krutih tvari otapanjem u tekućoj fazi. Postoje tri komponente u ovoj metodi: čvrsta otopljena tvar, netopljive krutine i otapalo. Metoda se još naziva i Soxhlet ili Soxtec metoda. Ovo je najčešća metoda koja se koristi za ekstrakciju triazina iz uzoraka tla i biljaka. Prije ekstrakcije uzorci mogu zahtijevati neku prethodnu obradu. Tako neki uzorci tla zahtijevaju sušenje na zraku ili usitnjavanje. Uzorci usjeva i hrane mogu zahtijevati usitnjavanje i mljevenje. Soxhlet ekstrakcija uključuje stavljanje uzorka u ekstrakcijsku posudu i ekstrahira se destilacijom prikladnim otapalom, u određenom periodu. Dodatno, ekstrakcija zahtijeva mućkanje uzorka, poput zemlje, sedimenta, hrane ili usjeva, s organskim otapalom. Prikladna otapala su: metanol, diklorometan, dietil eter, kloroform, aceton, voda pomiješana s acetonitrilom ili metanolom, aceton pomiješan s heksanom te vruća voda. Sljedeći korak je filtracija, sušenje i isparavanje otapala. Ponekad je potrebno dodatno čišćenje, a to se izvodi pomoću ekstrakcije

prikladnim otapalima ili se pomoću kolona punjenih aluminom, Florisilom ili silika gelom (Dean i sur., 1996.).

6.1.3. Ekstrakcija na čvrstoj fazi

SPE je ekstrakcijska metoda krutine i tekućine kojom se spojevi koji su otopljeni ili suspendirani u tekućoj smjesi odvajaju od ostalih spojeva u smjesi prema njihovim fizičkim i kemijskim svojstvima. SPE pruža korisnu metodu za pronalazak triazina u vodenim uzorcima. Primjena SPE u obliku diska ili kolonica, omogućuje visok stupanj fleksibilnosti. SPE se koristi za ukoncentriravanje analita u uzorku. Automatizirano ukoncentriravanje tragova triazina iz prirodne vode je korisno iz nekoliko razloga: ušteda u pogledu osoblja, manji rizik od grešaka u uzorkovanju i rukovanju, mali rizik od kontaminacije, povećani broj obrađenih uzoraka te povećana sigurnost. (Dean i sur., 1996.).

6.1.4. Superkrična ekstrakcija (SFE)

Korištenje SFE se razvija kao potencijalna tehnika za ekstrakciju analita iz čvrstih medija, sedimenata, tla, te vodenih uzoraka. SFE je tako u istraživanjima korišten i za ekstrakciju triazinskih herbicida. Prednosti SFE odnose se na njegovo korištenje CO₂, niske cijene, dostupnosti, netoksičnost, blagi uvjeti ekstrakcije te kompatibilnosti s detektorima. Te su prednosti dodatno poboljšane kada se u obzir uzme potencijal za visoku selektivnost ekstrakcija analita iz sedimenata postignut niskom površinskom napetosti, niskom viskoznošću i varijabilnoj sposobnosti otapala superkrične tekućine. (Dean i sur., 1996.).

6.1.5. Mikrovalna ekstrakcija

Upotreba ekstrakcije mikrovalovima za uklanjanje zagađivala okoliša iz čvrstih uzoraka je nova alternativna strategija. Trenutno se metoda ekstrakcije mikrovalovima u ovu svrhu još razvija te je malo podataka zabilježeno u literaturama. Međutim, jednostavnost rada, smanjena upotreba otapala, brža ekstrakcija u usporedbi sa Soxhlet ekstrakcijom i dobro iskorištenje su uvjeti koji bi mogli efikasno razgraditi zagađivala okoliša pa tako i atrazin. (Dean i sur., 1996.)

6.1.6. Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (SPME)

Mikroekstrakcija čvrste faze je nova tehnika razvijena od strane Arthura i Pawliszyna (1990). SPME omogućuje ekstrakciju i koncentraciju hlapljivih ili polu-hlapljivih spojeva iz uzorka matrice (obično vodene otopine koja se također koristi u headspace-u), te dobar prijenos u plinsku kromatografiju korištenjem splitless (bez podjele) univerzalnog injektora bez modifikacije (Jaillais i sur., 1997). SPME ipak pruža mnoge prednosti u odnosu na konvencionalne tehnike pripreme uzoraka U ovoj metodi se triazini adsorbiraju na vlakna silicijevog dioksida koja su obložena polidimetilksiloksanom (Dean i sur., 1996.).

6.2. Metode analize uzoraka

Ranije navedene metode pripreme uzoraka su prva faza u analizi ostataka herbicida i produkata njihove razgradnje. Nakon što je uzorak ekstrahiran iz njegove matrice, najčešće u odgovarajuće otapalo, spreman je za analizu odgovarajućim tehnikama. Kromatografske metode, posebno GC i HPLC, su moderne metode koje se koriste u obu svrhu. One su brze i precizne te su zato skoro u potpunosti zamijenile UV-Vis spektrofotometriju i tankoslojnu kromatografiju (TLC), koje su se koristile 1970-ih godina, jer su te metode bile osjetljive, no nedostajao im je separacijski potencijal. Kromatografija je fizikalno-kemijska tehnika odjeljivanja, u kojoj se sastojci smjese raspoređuju između dviju faza, od kojih je jedna nepokretna, a druga pokretna. Nepokretna faza dio je kromatografskoga sustava, a može biti čvrsta, kapljevita ili u obliku gela. Pokretna je faza fluid koji prolazi kroz nepokretnu fazu ili uzduž nje u određenom smjeru. To može biti kapljevina (tekućinska kromatografija) ili plin (plinska kromatografija). Pokretna faza u plinskoj kromatografiji naziva se plin nosioc, a u tekućinskoj mobilna faza. Detekcija se temelji na ionizaciji te na optičkim i elektrokemijskim mehanizmima (Hrvatska enciklopedija, 2021.). Dean i sur. (1996.) navode da se za analizu triazina koriste sljedeće vrste kromatografije: plinska kromatografija uz detektore poput atomske emisijskog i plamenoionizacijskog, vezani sustav plinska kromatografija-spektrometar masa, , ionska kromatografija, tankoslojna kromatografija visoke djelotvornosti i superkritična kromatografija.

7. Zaključak

1. Triazinski herbicidi su se koristili često i u velikim količinama. Također, koristili su se na poljoprivrednim, ali i na nepoljoprivrednim površinama. Time su se njihove rezidue raširile posvuda. Atrazin je vrsta triazinskih herbicida koji se najčešće koristio te je isti ostao u najvećim količinama kao rezidua, a mnoge biljke su razvile i rezistentnost. Atrazin je uz to jako postojan, a to su mu omogućila njegova kompleksna kemijska svojstva.
2. Atrazin se može pronaći u svim medijima koji okružuju organizme. Najviše ga se pronalazi u vodama, površnim, ali i podzemnim. Također se nalazi i u sedimentima, tlu kao i zraku. Može se zadržavati u biljkama koje se nalaze na tretiranoj površini.
3. Dokazane su brojne negativne posljedice na organizme. Najviše su u opasnosti vodeni organizmi s obzirom da su najveće količine atrazina i rezidua upravo u tom mediju. Dokazane su brojne promjene i posljedice i kod ptica, glodavaca, glisti kao i kod ljudi. U ljudi se točan utjecaj atrazina i njegovih metabolita još istražuje te se očekuje još podataka o točnim negativnim posljedicama.
4. Atrazin se, kao i svaki herbicid, s vremenom razgrađuje na svoje sekundarne metabolite. Problem s atrazinom je što su neki njegovi metaboliti postojaniji u medijima, pogotovo vodi, više nego on sam. Time se zahtijeva pronalazak dodatnih metoda koje će te postojeće metabolite što prije razgraditi na one koji su manji štetni i postojaniji. Atrazin se većinom razgrađuje N-dealkilacijom i hidrolizom. Metode kojima se atrazin može razgraditi su podijeljene na biološke te fizikalno-kemijske metode.
5. Prije nego se u uzorcima medija može dokazati, uzorke je potrebno pripremiti za analizu. Ukoliko je priprema uzorka za analizu dobro odrađena, smanjuju se šanse za netočnim podacima te se očekuju puno precizniji rezultati. Metode pripreme uzoraka za analizu se dijele primarno na ekstrakcija tekuće-tekuće i ekstrakcija čvrsto-tekuće. S vremenom su razvijene i modernizirane verzije istih su, a to su: ekstrakcija na čvrstoj fazi, superrkritična ekstrakcija, mikrovalna ekstrakcija te mikroekstrakcija na čvrstoj fazi.
6. Kada je uzorak pripremljen za analizu, isti se analizira kromatografskom tehnikom. Za analizu atrazina koriste se sljedeće tehnike: plinska kromatografija uz detektore poput

atomske emisije i plamenoionizacijskog, vezani sustav plinske kromatografije-
spektrometar masa, ionska kromatografija, tankoslojna kromatografija visoke
djelotvornosti i superkrična kromatografija.

Popis literature

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2003.). Toxicological Profile for Atrazine. dostupno na: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tfacts153.pdf>
2. Dean, J. R., Wade, G., Barnabas, I. J. (1996.). Determination of triazine herbicides in environmental samples. Journal of Chromatography A. 733:295-335. dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967395006915>
3. New Jersey Department of Environmental Protection (NJDEP). (2013.). Hazardous Substance Fact Sheet. dostupno na: <https://www.state.nj.us/dep/enforcement/pcp/bpc/wps/triazines.pdf>
4. Donley, N. (2022.). Op-Ed: Countries all over the world are banning atrazine. The US just keeps spraying. Environmental Health News. dostupno na: <https://www.ehn.org/atrazine-herbicide-2657786363/big-ag-s-pr-campaign>
5. Evgenidou, E., Fytianos, K. (2002.). Photodegradation of Triazine Herbicides in Aqueous Solutions and Natural Waters. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 6423-6427. dostupno na: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/16/5075/pdf>
6. Fishel, F. M. (2018.) Pesticide Toxicity Profile: Triazine Pesticides. PI-121. UF/IFAS Extension. dostupno na: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/PI158>
7. Hong, J., Boussetta, N., Enderlin, G., Merlier, F., Grimi, N. (2022.). Degradation of Residual Herbicide Atrazine in Agri-Food and Washing Water. Foods. 11 (16): 2416. dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3863374/pdf/JZUSB14-1162.pdf>
8. Klementova, S., Kelternova L. (2015.). Triazine Herbicides in the Environment. Herbicides, Physiology of Action, and Safety. 71-96. dostupno na: <https://www.intechopen.com/chapters/48620>
9. Kromatografija. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021. dostupno na: <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=34154>
10. Mendaš, G. (2011.). Biološki monitoring izloženosti ljudi triazinskim herbicidima analizom metabolita u urinu. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju. 62 (2): 191-202. dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/clanak/103341>
11. Peighambarzadeh, S. Z., Safi, S., Shahtaheri, S. J., Javanbakht, M., Rahimi Forushani, A. (2011.). Presence of Atrazine in the Biological Samples of Cattle and Its Consequence

- Adversity in Human Health. Iranian Journal of Public Health. 40 (4):112-121. dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9407628/pdf/foods-11-02416.pdf>
12. Peng, J., Gan, J., Ju, X., Liu, T., Chen, J., He, L. (2021.). Analysis of triazine herbicides in fish and seafood using a modified QuEChERS method followed by UHPLC-MS/MS. *Journal of Chromatography B*. 1171. dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570023221001021?via%3DiHub>
 13. Rostami, S., Jafari, S., Moeini, Z., Jaskulak, M., Keshtgar, L., Badeenezhad, A., Azhdarpoor, A., Rostami, M., Zorena, K., Dehghani, M. (2021.). Current methods and technologies for degradation of atrazine in contaminated soil and water: A review. *Environmental Technology & Innovation*. 24. dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352186421006672>
 14. Schäffer, A., Fenner, K., Wang, Z., Scheringer, M. (2022.). To be or not to be degraded: in defense of persistence assessment of chemicals. *Environmental Science: Processes & Impacts*. 24:1104-1109. dostupno na: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2022/em/d2em00213b>
 15. Yang, L., Li, H., Zhang, Y., Jiao, N. (2019.). Environmental risk assessment of triazine herbicides in the Bohai Sea and the Yellow Sea and their toxicity to phytoplankton at environmental concentrations. *Environmental International*. 133 (A). dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412019312139>
 16. Lewis, K.A., Tzilivakis, J., Warner, D. and Green, A. (2016) An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22 (4), 1050-1064. dostupno na: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/43.htm>
 17. Doyle, S. K. (2007.). Atrazine Chemical Summary. dostupno na: https://archive.epa.gov/region5/teach/web/pdf/atrazine_summary.pdf
 18. Solomon, R. D. J., Kumar, A., Satheeja Santhi, V. (2013.). Atrazine biodegradation efficiency, metabolite detection, and *trzD* gene expression by enrichment bacterial cultures from agricultural soil. *Journal of Zhejiang University - Science B (Biomedicine & Biotechnology)*. 14 (12):1162-1172. dostupno na: <http://www.jzus.zju.edu.cn/article.php?doi=10.1631/jzus.B1300001>

Životopis

Petra Tišljarić rođena je 19. travnja 1999. godine u Zagrebu gdje živi i danas. Osnovnu školu Kustošija upisuje 2006. godine i završava 2014. godine. Iste godine upisuje Klasičnu gimnaziju u Zagrebu koju završava 2018. godine. Iste godine upisuje preddiplomski studij Fitomedicine na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. 2013. godine sudjelovala je i osvojila 3. mjesto na državnom Natjecanju iz biologije osnovnih i srednjih škola u kategoriji samostalnih istraživačkih radova u Zadru te je sudjelovala na natjecanju mladih Hrvatskog Crvenog križa u Zagrebu. Aktivno se bavila hokejom na travi u HAHK Mladost u periodu od 2015. do 2022. godine. U slobodno vrijeme bavi se fotografijom i posjeduje svu potrebnu opremu, kao i znanje i vještine za obradu fotografija u programu Lightroom. Osim hrvatskog, materinjeg, jezika tečno govori i engleski jezik te poznaje osnove talijanskog jezika.